

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日:
2005年9月22日(22.09.2005)

PCT

(10) 国际公布号:
WO 2005/087701 A1

(51) 国际分类⁷: C07C 65/32, 51/00, A61K 31/19, A61P 9/10

朝阳区建国门外大街22号赛特广场7层, Beijing 100004 (CN)。

(21) 国际申请号: PCT/CN2004/000602

(22) 国际申请日: 2004年6月4日(04.06.2004)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
200410007520.1 2004年3月12日(12.03.2004) CN

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 北京天衡药物研究院(Team Academy of Pharmaceutical Science) [CN/CN]; 中国北京市丰台区蒋家坟路329号, Beijing 100039 (CN)。

(72) 发明人;及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 刘全志(LIU, Quanzhi) [CN/CN]; 杨文斌(YANG, Wenbin) [CN/CN]; 秦华(QIN, Hua) [CN/CN]; 赵兴凯(ZHAO, Xingkai) [CN/CN]; 马喜生(MA, Xisheng) [CN/CN]; 中国北京市丰台区蒋家坟路329号, Beijing 100039 (CN)。

(74) 代理人: 北京集佳知识产权代理有限公司 (UNITALEN ATTORNEYS AT LAW); 中国北京市

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

本国际公布:
— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: NOVEL 2-(α -N-PENTANONYL)BENZOATES, THEIR PREPARATION AND USE

(54) 发明名称: 新的 2-(α -正戊酮基) 苯甲酸盐及其制法和用途

(57) Abstract: The present invention relates to novel compounds 2-(α -n-pentanonyl)benzoates, their preparation method, the pharmaceutical composition containing the same, and their use in preparing the medicine for preventing and/or treating cardioischemia/cerebroischemia, thrombus and disorder of cardiac/cerebral circulation.

(57) 摘要

本发明涉及新的 2-(α -正戊酮基) 苯甲酸盐及其制法, 和以该化合物为活性成分的药物组合物, 还涉及该化合物在制备预防和治疗心脑血管缺血性疾病、抗血栓及改善心脑血管循环障碍的药物中的应用。

WO 2005/087701 A1

新的 2 - (α -正戊酮基) 苯甲酸盐及其制法和用途

技术领域

5 本发明涉及新的 2 - (α -正戊酮基) 苯甲酸盐及其制法, 以及以该化合物为活性成分的药物组合物, 还涉及该类化合物及组合物在预防和治疗心脑血管缺血性疾病及改善心脑血管循环障碍、抗血栓等方面的应用。

背景技术

10 急性缺血性脑卒中和冠心病以及心肌梗死, 都是由于各种因素诱发血栓形成所导致的缺血性损伤的疾病, 该类疾病给病人带来极大的痛苦甚至生命危险。目前, 该类药物的研究一直是药物研究开发的热点和前沿。

3-羟基苯酞类化合物, 多数有药理活性, 其中 DL-3-正丁基苯酞, 中国专利 ZL 93117148.2 公开了抗脑缺血的活性, 并且国内已经作为一类新药上市, 商品名“恩必普”, 剂型为软胶囊。3-正丁烯基苯酞有报道具有抗血小板聚集的作用 (Biochimica et, Biophysica Acta, 924(1987), 375-382), 但没有发现公开
15 其抗脑缺血及抗血栓形成的活性的报道, 此外由于其和 DL-3-正丁基苯酞一样是不溶于水的粘稠液体, 并不便于制药工业制成合适的制剂形式。

中国专利 CN1382682A, 申请号 01109795.7, 首次公开了以 DL-3-正丁基苯酞为先导物制备 2 - (α -羟基戊基) 苯甲酸盐及其用途, 涉及一价金属离子、二价金属离子和有机碱基的盐, 具体公开了钾、钠、钙、镁、锌、苯胺、苄胺、吗
20 啉、二乙胺的盐。其说明书中公开了钾盐、钠盐、锂盐、钙盐、苄胺盐的制备, 但没有公开锌盐、苯胺、吗啉、二乙胺盐的具体制备方法。其说明书中还公开了钾盐对局部脑缺血大鼠脑梗塞面积的影响, 对大鼠血小板聚集的影响, 以及大鼠离体心脏缺血-再灌注心率失常的保护作用, 证明钾盐在上述实验中发挥了有益作用。其他盐类化合物则未进行药效实验证明其效果。

25 本发明的发明人在研制新的心脑血管类药物时, 研究大量 2 - 羟基苯甲酸盐的过程中, 不仅意外地发现 3 - 正丁烯基苯酞具有抗脑缺血及抗血栓形成的活性, 同时还意外地发现新的 2 - (α -正戊酮基) 苯甲酸盐, 该类化合物与现有技术的 2 - (α -羟基戊基) 苯甲酸盐以及其先导化合物 3 - 正丁烯基苯酞相比, 出人意料地具有更加优异的心脑血管活性, 并且有更好的物理和化学性能。

发明内容

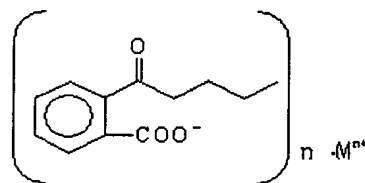
本发明的目的，就是提供一种新的 2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐，具有明显的抗脑缺血、抑制血栓形成，从而改善心脑血管循环、预防和治疗心脑血管缺血性疾病的一类新的化合物，该化合物具有良好的外观及物理形态，对光、热、湿稳定性优异。

本发明的另一目的，是提供一种制备 2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐的方法。

本发明的进一步的目的是为临床提供一种可有效预防和治疗心脑血管缺血性疾病及改善心脑血管循环障碍、抗血栓的药物组合物。

本发明的另一目的是提供上述化合物和组合物在制备预防和治疗心脑血管缺血性疾病及改善心脑血管循环障碍、抗血栓药物中的应用。

为了完成本发明的目的，本发明的发明人制备并研究了一大批 2-烷基苯甲酸盐，包括中国专利 CN1382682A 已公开的盐，经过理化性质、药效、毒性研究，意外地发现具有下式结构的化合物，具有各方面优异的性能，现有技术中未见对该类化合物的报道。



其中， $n=1$ 或 2； M 为一价金属离子如锂，钠，钾，或是二价金属离子如镁、钙、锌，或有机碱基，如苄胺、叔丁胺、甲基苄胺、 N, N' -二苄基乙二胺。一价金属离子优选钠，钾，二价金属离子优选钙，有机碱基优选 N, N' -二苄基乙二胺。

本发明化合物可按如下方法制备：

M 为有机碱基的制备方法：由 3-正丁烯基苯酐（按现有公知技术所述方法制备，例如兰州大学学报：自科版.1990, 26(1). 118-119, (\pm)-芹菜甲素的合成，李绍白，张升明）碱性条件下水解，再酸化得到 2-(α -正戊酮基)苯甲酸，溶于低极性溶剂后与有机碱的溶液反应，搅拌数小时，成盐析出，抽滤，干燥，即得到白色固体状的本发明化合物中有机碱的盐。上述所用低极性溶剂包括苯类

-3-

(如甲苯)、乙醚、二氯甲烷、乙酸乙酯,优选乙醚。

M 为一价金属离子的制备方法: 2-(α -正戊酮基)苯甲酸溶于极性溶剂后金属离子的碱反应成盐,然后搅拌下加入低极性溶剂,搅拌数小时,析出,抽滤,干燥,即得到白色固体状的本发明化合物中一价金属离子的盐。上述所用极性溶剂包括 C₁-C₄ 低级醇类优选甲醇,低极性溶剂包括苯类(如甲苯)、乙醚、二氯甲烷、乙酸乙酯,优选乙醚。

M 为二价金属离子的制备方法: 用已制备好的 2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐的溶液,与二价金属离子盐的溶液混合,进行盐交换反应,制得二价金属离子的 2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐。适合的溶剂包括常见的极性溶剂,如水和醇类,优选水和 C₁-C₄ 低级醇类如甲醇、乙醇。

本发明人发现本发明的化合物尤其是优选的化合物具有如下优异的性能:

- 1、 具有良好的物理形态,便于制药工业加工成合适的制剂形式。
- 2、 只需简单的后处理即可达到药用纯度。
- 3、 稳定性实验表明本发明的化合物非常稳定,与已公开的 2-(α -羟基戊基)苯甲酸盐相比,本发明的化合物更加稳定。

4、 动物急性毒性试验表明本发明的化合物与已公开的 2-(α -羟基戊基)苯甲酸盐相比,毒性更小。

5、 在动物药效模型试验中,与已公开的 2-(α -羟基戊基)苯甲酸盐及 3-正丁烯基苯酞相比,本发明的化合物在相同剂量下对脑动脉阻塞引起的脑组织损伤显示出更加优异的保护作用,表现在可使大脑中动脉血栓模型大鼠的神经症状明显改善,梗塞面积明显减少,并能明显抑制大鼠动-静脉旁路血栓形成,说明本发明化合物可有效抑制血栓形成,对心脑血管缺血性疾病具有较好的预防和治疗作用。

6、 在对大脑中动脉血栓模型大鼠神经症状及脑梗塞范围的影响试验中,与已公开的 2-(α -羟基戊基)苯甲酸盐及 3-正丁烯基苯酞相比,本发明的化合物具有更小的显著性疗效剂量,即在较低剂量下,即可表现出显著性的效果。

本发明的药物组合物含有治疗有效量的本发明化合物为活性成分,以及含有一种或多种药学上可以接受的载体。

上文所述药学上可接受的载体是指药学领域常规的药物载体(也称为辅料),其中固体制剂常用的辅料包括填充剂如淀粉、蔗糖等;粘合剂如纤维素衍生物、藻酸盐、明胶和聚乙烯醇吡咯烷酮;湿润剂如乙醇、水;崩解剂如淀粉及其衍生物如羧甲基淀粉钠(CMS-Na)、低取代羟丙基纤维素(LS-HPC)、交联聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)、交联羧甲基纤维素钠(CCMC-Na)等以及泡腾崩解剂;吸收促进剂如季铵化合物;表面活性剂如十六烷醇;吸附载体如高岭土和皂粘土;润滑剂如滑石粉、硬脂酸钙和镁、聚乙二醇;另外还可在组合物中加入其它辅助剂如香味剂、甜味剂等。液体制剂的辅料包括注射用水,以及 pH 调节剂如氢氧化钠,还有其他辅料如等渗调节剂等,本领域技术人员,可按照药学领域的液体制剂常规制备方法合理选择常用的辅料种类和用量,使最终产品符合常规静脉注射剂或静脉注射用冻干剂的要求。

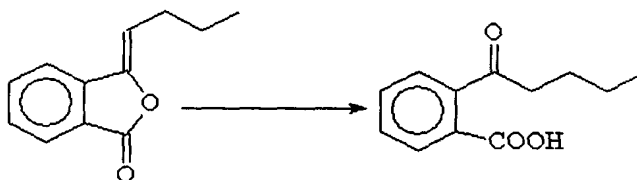
本发明的化合物和药物组合物可用于制备预防和治疗心脑血管缺血性疾病,抗血栓、改善心脑血管循环障碍等的药物。

本发明药物组合物的各种剂型可以由本领域技术人员,按照药学领域的常规生产方法制备。例如使活性成分与一种或多种载体混合,然后将其制成所需的剂型,包括片剂、胶囊、颗粒剂,本发明化合物中水溶性的盐还可以由本领域技术人员,按照药学领域的静脉注射剂常规生产方法制成静脉注射剂、静脉注射冻干剂等。

具体实施方式

下面的实施例可帮助本领域的技术人员更全面地理解本发明,但不以任何方式限制本发明的保护范围。

实施例 1: 2-(α -正戊酮基)苯甲酸的制备

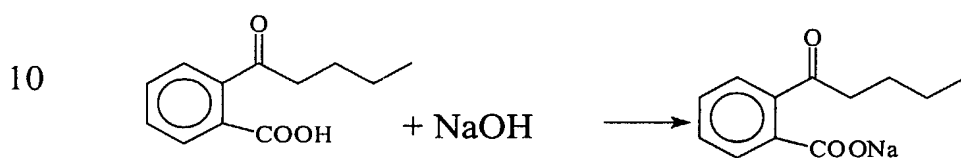


在反应瓶中加入 3-正丁烯基苯酐 100g (0.53mol)、甲醇 300ml, NaOH 40 g 和水 50 ml, 回流 8 小时后, 减压除去甲醇后再补加 200ml 水, 冷却。搅拌下滴加浓度为 4N 的盐酸, 调 PH=2~3。用乙醚萃取, 萃取液用水洗, 干燥, 过滤, 减压将乙醚抽干, 得淡黄色胶状固体 100g, 收率为: 91%。

5

实施例 2: 2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠的制备

(1)



在反应瓶中加入 NaOH 3.4g (0.085 mol)、甲醇 50ml, 2-(α -正戊酮基)苯甲酸 21g (0.1mol), 室温搅拌 2 小时, 分批加入 1000 ml 乙醚, 析出大量白色固体, 搅拌 2 小时后过滤抽干, 将固体用乙醚洗涤, 抽滤, 滤饼真空干燥, 得白色粉末状结晶 2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠 16g, 收率 82.6% (以 NaOH 计), m. p.: 219.0~220.0℃。

15

(2) 按照 (1) 的操作, 只将甲醇换成等体积乙醇, 得白色粉末状固体 15g, 收率 77.4%, m. p.: 219.0~220.5℃。

(3) 按照 (1) 的操作, 将乙醚换成等体积的甲苯、二氯甲烷、乙酸乙酯, 收率均有所下降。

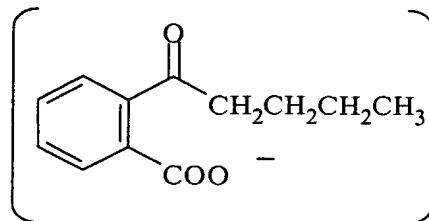
20

红外吸收光谱: KBr, 3060cm^{-1} , ($\nu_{\text{Ar-H}}$), 1689cm^{-1} , ($\nu_{\text{C=O}}$),

核磁共振氢谱: (300MHz, CD_3Cl) δ (ppm) 6.999-7.806 (m, 4H, Ar-H), 2.485-2.689 (t, 2H, $-\text{CH}_2-$), 1.455-1.530 (m, 2H, $-\text{CH}_2-$), 1.223-1.295 (m, 2H, $-\text{CH}_2-$) 0.805-0.8850 (t, 3H, $-\text{CH}_3$)

25

ESI-MS: Negative M/Z 205

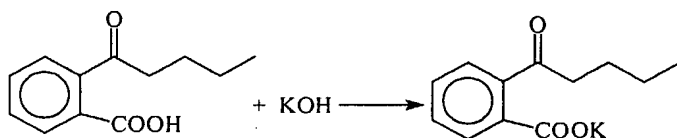


元素分析: $C_{12}H_{13}NaO_3$ FW228.22

	C	H
理论值%	63.15	5.74
实测值%	63.20	5.80

实施例 3: 2-(α -正戊酮基)苯甲酸钾的制备

5

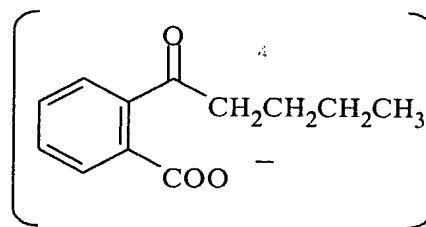


在反应瓶中加入 KOH4.5g (0.08mol)、甲醇 50ml、2-(α -正戊酮基)苯甲酸 21g (0.10mol)，室温搅拌 2 小时。减压蒸去溶剂，加入 1.0L 无水乙醚，搅拌析出大量白色固体。搅拌 2 小时后抽干，用乙醚洗涤，抽干，真空干燥，得白色固体 16g，收率：81.8% (以 KOH 计)，m. p.: 113.5~115.0℃。

红外吸收光谱: KBr, 3062 cm^{-1} , (ν_{Ar-H}), 1685 cm^{-1} , ($\nu_{C=O}$)

核磁共振氢谱: (400MHz, CD_3Cl) δ (ppm) 6.9550-7.7305 (m, 4H, Ar-H), 2.6099-2.6476 (t, 2H, $-CH_2-$), 1.4531-1.5288 (m, 2H, $-CH_2-$), 1.2116-1.23043 (m, 2H, $-CH_2-$) 0.8141-0.8508 (t, 3H, $-CH_3$)

ESI-MS: Negative M/Z 205

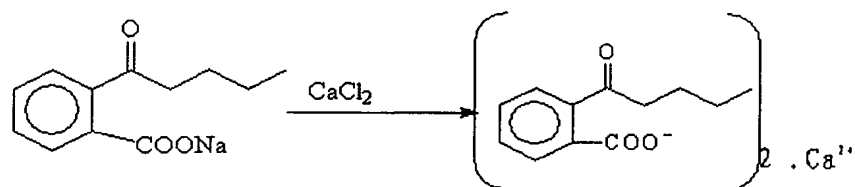


20

元素分析: $C_{12}H_{13}KO_3$ FW244.33

	C	H
理论值%	58.99	5.36
实测值%	58.90	5.40

实施例 4: 2-(α -正戊酮基)苯甲酸钙盐的制备



5

在烧杯中加入 44g (0.193mol) 2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠盐和 95ml 水, 室温搅拌下全溶。将 10.7g CaCl_2 (0.096mol) 溶于 25ml 水中, 分批加入到搅拌着的钠盐水溶液中, 立即析出白色固体, 室温搅拌 2 小时抽干。滤饼用 60ml 水洗涤, 用乙醚洗, 干燥, 得 37g 白色固体。收率: 85.5%, m. p.: 108.0~110.5

10

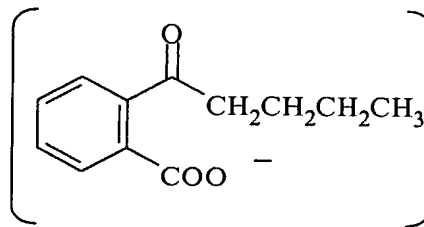
℃。

红外吸收光谱: KBr , 3062cm^{-1} , (ν Ar-H), 1687cm^{-1} , (ν C=O)

核磁共振氢谱: (400MHz, CD_3Cl) δ (ppm) 7.0392 - 7.8998 (m, 8H, Ar-H), 2.6507 - 2.6885 (t, 4H, -CH₂-), 1.4591 - 1.5346 (m, 4H, -CH₂-), 1.1921 - 1.2846 (m, 4H, -CH₂-), 0.7960 - 0.8325 (t, 6H, -CH₃)

15

ESI-MS: Negative M/Z 205

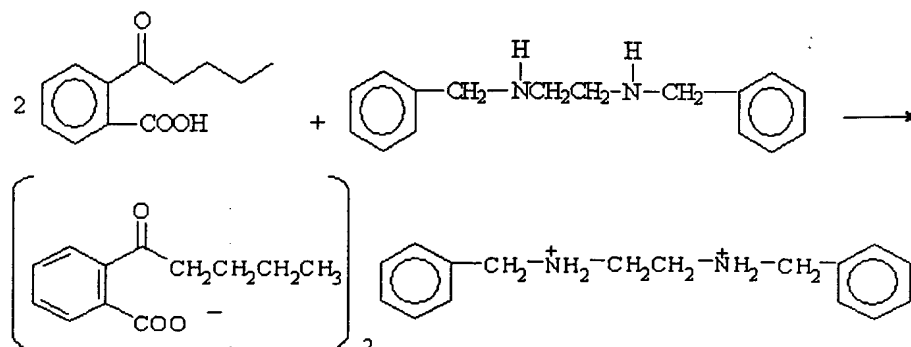


20

元素分析: $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{CaO}_6$ FW450.54

	C	H
理论值%	63.98	5.82
实测值%	63.90	5.80

实施例 5: 2-(α -正戊酮基)苯甲酸 N, N'-二苄基乙二胺盐的制备



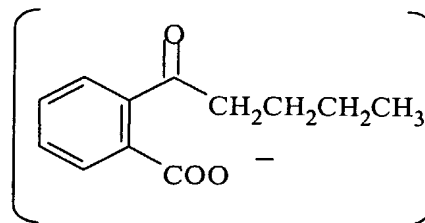
- 5 在反应瓶中加入 N, N'-二苄基乙二胺 21.4g (0.089 mol) 和乙醚 1000ml, 室温搅拌下全溶后, 分批加入 2-(α -正戊酮基)苯甲酸的乙醚溶液 1000ml (36.6g, 0.178 mol), 逐渐变浑浊, 加完后析出大量白色固体。室温搅拌 2 小时后抽滤, 用乙醚洗涤, 抽干, 干燥得 39g 白色固体, 收率: 66.9%, m. p.: 94.5~96.5°C。

红外吸收光谱: KBr, 3030、3060 cm^{-1} , (ν Ar-H). 1685 cm^{-1} , (ν C=O)

- 10 核磁共振氢谱: (400MHz, CD_3Cl) δ (ppm) 7.2526 - 7.7949 (m, 18H), 3.8531 (s, 4H, 两个 Ar- CH_2), 2.8133 (s, 4H, N- CH_2CH_2 -N), 2.4140 - 2.49811 (m, 4H, 两个 - CH_2 -), 1.3312 - 1.4052 (m, 4H, 两个 - CH_2 -), 1.0866 - 1.3004 (m, 4H, 两个 - CH_2 -), 0.7994 - 0.8356 (m, 6H, 两个 - CH_3)

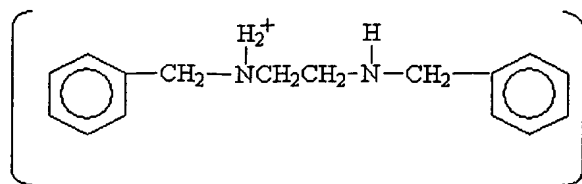
15

ESI-MS: Negative M/Z 205



20

Positive M/Z 241

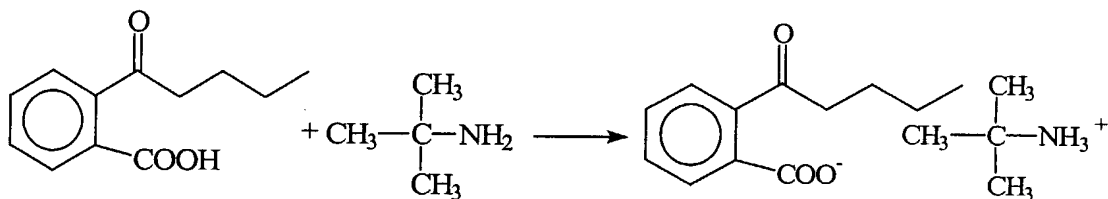


元素分析: $C_{40}H_{50}N_2O_6$ FW654.85

5

	C	H	N
理论值%	73.37	7.70	4.28
实测值%	73.20	7.85	4.30

实施例 6: 2-(α -正戊酮基)苯甲酸叔丁胺盐的制备



10

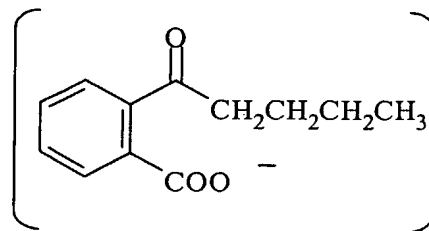
将叔丁胺 17.8g (0.243mol) 溶于 1000ml 乙醚中, 加入 2-(α -正戊酮基)苯甲酸乙醚溶液 1000ml (50g, 0.243mol), 室温搅拌 15 分钟后析出大量固体, 继续搅拌 2 小时。抽滤, 滤饼用乙醚洗两次, 干燥, 得 50g 白色固体, 收率 73.5%, m. p.: 122.5~124.0°C。

15

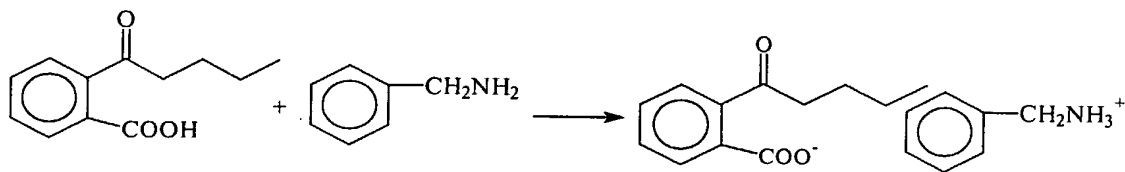
红外吸收光谱: KBr, 3060 cm^{-1} ($\gamma_{\text{Ar-H}}$), 1683 cm^{-1} ($\gamma_{\text{C=O}}$)

-10-

ESI-MS: Negative M/Z 205

5 元素分析: $C_{16}H_{25}NO_3$ FW279.38

	C	H	N
理论值%	68.79	9.02	5.01
实测值%	68.83	9.05	4.97

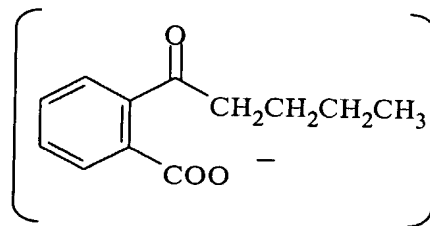
实施例 7: 2-(α -正戊酮基)苯甲酸苄胺盐的制备

10

将 2-(α -正戊酮基)苯甲酸 25g (0.121mol) 溶于 700ml 乙醚中, 加入苄胺 12.8g (0.120mol), 室温搅拌 10 分钟后析出白色固体, 继续搅拌 2 小时。抽滤, 滤饼用乙醚洗, 抽干, 干燥得 35g 白色固体, 收率: 93%, m. p.: 72.5~74.0 °C。

15

ESI-MS: Negative M/Z 205



20

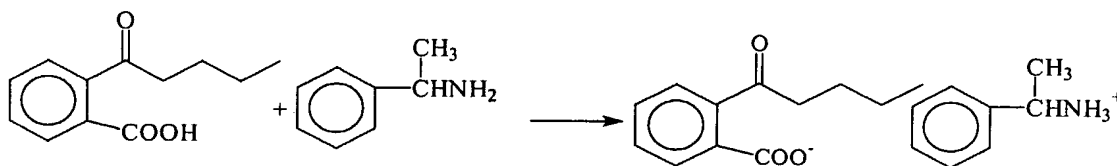
元素分析: $C_{19}H_{23}NO_3$ FW313.40

	C	H	N
--	---	---	---

- 11 -

理论值%	72.82	7.40	4.47
实测值%	72.90	7.35	4.51

实施例 8: 2-(α -正戊酮基)苯甲酸 (S)- α -甲基苄胺盐的制备

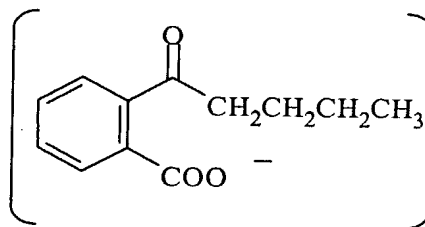


5

在反应瓶中 2-(α -正戊酮基)苯甲酸 25g (0.121mol) 溶于 700ml 乙醚, 加入 (S)- α -甲基苄胺 14.6g (0.120mol), 室温搅拌 10 分钟后析出白色固体, 继续搅拌 2 小时后抽滤, 滤饼用乙醚洗涤, 抽干, 干燥得 30g 白色固体, 收率: 76.4%, m. p.: 82.0~84.0°C。

10

ESI-MS: Negative M/Z 205



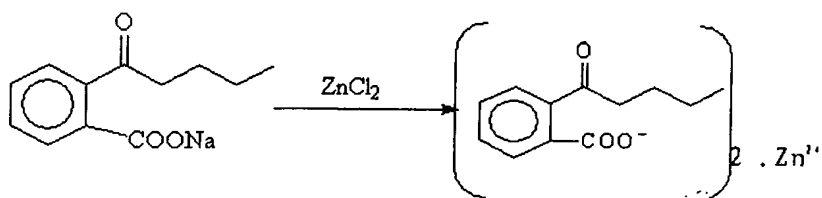
15

元素分析: C₂₀H₂₅NO₃ FW327.41

	C	H	N
理论值%	73.14	7.98	4.26
实测值%	73.10	8.05	4.28

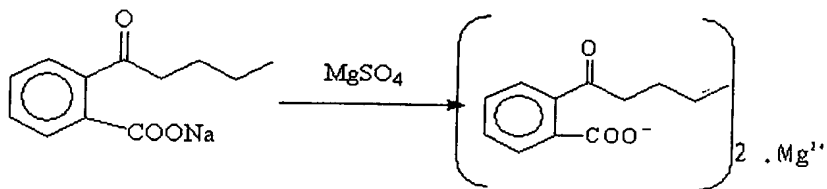
20

实施例 9: 2-(α -正戊酮基)苯甲酸锌盐的制备



在烧杯中加入 44g (0.193mol) 2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠盐和 95ml 水，
 搅拌下全溶。将 13.2g ZnCl_2 (0.096mol) 溶于 125ml 水中，冷却至室温，分批
 5 加入到搅拌着的钠盐水溶液中，立即析出白色粘稠固体，室温搅拌 2 小时抽滤，
 抽滤困难，滤饼白色粘稠固体，真空干燥后为白色胶状固体。

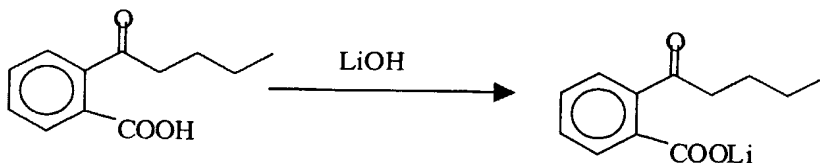
实施例 10: 2-(α -正戊酮基)苯甲酸镁盐的制备



10

在烧杯中加入 44g (0.193mol) 2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠盐和 95ml 水，
 室温搅拌下全溶。将 11.5g MgSO_4 (0.096mol) 溶于 125ml 水中，冷却至室温，
 分批加入到搅拌着的钠盐水溶液中，析出白色粘稠固体，搅拌 2 小时抽滤，滤饼
 15 为白色粘稠固体，真空干燥后为白色泡沫状固体。

实施例 11: 2-(α -正戊酮基)苯甲酸锂的制备



在反应瓶中加入 LiOH 2.0g (0.085 mol)、甲醇 50ml、2-(α -正戊酮基)苯甲酸 21g (0.1mol)，室温搅拌 1 小时，分批加入 1000 ml 乙醚，析出大量白色粘稠物，搅拌 2 小时后过滤抽干，将粘稠物用乙醚洗涤，抽滤，滤饼放到真空干燥器中干燥，得白色泡沫状固体。

小结：锂盐、镁盐、锌盐均为泡沫状或胶状固体，无明显的熔点，它们都不符合制药工业的要求。钠盐、钾盐、钙盐、苄胺盐、N, N'-二苄基乙二胺盐、叔丁胺盐有良好的外观物理形态和固定的熔点。

10

实施例 12: 水溶液稳定性

将各化合物溶于水中，制成 0.2mg/ml 的溶液，测定一定时间后分解产物的量，结果见表 1。

表 1 水溶液稳定性比较

时间 分解产物% 样品	0 小时	1 小时	2 小时	4 小时	16 小时	24 小时
2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠盐	0	0	0	0	0	0
2-(α -正戊酮基)苯甲酸钾盐	0	0	0	0	0	0
2-(α -羟基戊基)苯甲酸钾盐*	0	0.2	0.36	0.75	4.5	5.3

15

*: 实施例中所用 2-(α -羟基戊基)苯甲酸盐均按照 CN1382682A 的方法制备，下同。

分解产物的测定采用 HPLC 方法，按照中国药典 2000 版二部附录 VD 试验，C18 柱，流动相乙腈: 0.02M 磷酸二氢钠=40: 60，检测波长 230nm，流速 1ml/min。

从结果可以看出，2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠盐、钾盐，在水中 24 小时后检测不到分解产物，其水溶液稳定性明显好于 2-(α -羟基戊基)苯甲酸钾盐。

20

实施例 13: 湿稳定性

将 2-(α -正戊酮基)苯甲酸的钠盐、钾盐、钙盐、N, N'-二苄基乙二胺盐和 2-(α -羟基戊基)苯甲酸钾盐、钙盐、N, N'-二苄基乙二胺盐, 按照中国药典 2000 版二部附录 XIX C “药物稳定性指导原则”项下“高湿度试验方法”所述方法试验, 时间为 10 天。纯度的测定采用 HPLC 方法, 按照中国药典 2000 版二部附录 V D 试验, C18 柱, 流动相乙腈: 0.02M 磷酸二氢钠=40: 60, 检测波长 230nm, 流速 1ml/min。

实验结果表明, 2-(α -正戊酮基)苯甲酸的钠盐、钾盐、钙盐在湿度条件下略有吸湿, 但是与对应的 2-(α -羟基戊基)苯甲酸钾盐吸湿后分解严重相比, 2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠盐、钾盐、钙盐吸湿后几乎不分解。两种酸的 N, N'-二苄基乙二胺盐都吸湿较小而且稳定。

实施例 14: 光照稳定性

按照中国药典 2000 版二部附录 XIX C “药物稳定性指导原则”项下“光照稳定性试验方法”所述方法试验, 时间为 10 天, 纯度的测定采用 HPLC 方法, 按照中国药典 2000 版二部附录 V D 试验, C18 柱, 流动相乙腈: 0.02M 磷酸二氢钠=40: 60, 检测波长 230nm, 流速 1ml/min。结果表明本发明的 2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠、钾、钙以及 N, N'-二苄基乙二胺盐均未检出分解产物, 说明对光照稳定性很好。

实施例 15: 热稳定性

按照中国药典 2000 版二部附录 XIX C “药物稳定性指导原则”项下“热稳定性试验方法”所述方法试验, 温度为 60℃, 时间为 10 天, 纯度的测定采用 HPLC 方法, 按照中国药典 2000 版二部附录 V D 试验, C18 柱, 流动相乙腈: 0.02M 磷酸二氢钠=40: 60, 检测波长 230nm, 流速 1ml/min。结果表明本发明的 2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠、钾、钙以及 N, N'-二苄基乙二胺盐均未检出分解产物, 说明对热稳定性很好。

实施例 16: 片剂

成分	数量 (mg/片)
2-(α -正戊酮基) 苯甲酸盐	100
淀粉	50
微晶纤维素	35
硬脂酸镁	2
羧甲基纤维素钠	5

制备方法: 按配比将活性成分、淀粉、微晶纤维素、羧甲基纤维素钠混匀, 用水润湿, 制颗粒, 干燥, 整粒, 加入硬脂酸镁, 混匀后将混合物压片即得本品片剂。

5

实施例 17: 胶囊剂

成分	数量 (mg/胶囊)
2-(α -正戊酮基) 苯甲酸盐	100
淀粉	50
羧甲基纤维素钠	3
交连 PVP	1
硬脂酸镁	1.5

制备方法: 按配比将活性成分和辅料混匀, 湿法制颗粒, 干燥, 整粒, 加入硬脂酸镁, 混匀后将混合物按定量装入胃溶性硬胶囊中, 即得本品胶囊剂。

10

实施例 18: 颗粒剂

成分	数量 (mg/包)
2-(α -正戊酮基) 苯甲酸盐	100
淀粉	1000
糊精	150
糖粉	150

制备方法: 按配比将活性成分和辅料混匀后湿法制粒, 干燥, 整粒分级, 分剂量包装, 即得本品颗粒剂。

实施例 19: 静脉注射剂

成分	数量
2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐	100mg/瓶
氢氧化钠	适量
注射用水	适量
氯化钠	适量

制备方法: 将水溶性 2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐溶于适量的注射用水中, 加适量氢氧化钠, 将 pH 调至 9.0 (范围可以在 7.5~9.5 之间), 根据需要添加适量氯化钠, 在无菌条件下装入瓶中, 灭菌, 即得本品静脉注射液。

实施例 20: 静脉注射冻干剂

成分	数量
2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐	100mg/瓶
氢氧化钠	适量
甘露醇	适量

制备方法: 将水溶性 2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐溶于适量的注射用水中, 加适量氢氧化钠, 将 pH 调至 9.0 (范围可以在 7.5~9.5 之间), 根据需要添加适量甘露醇, 过滤, 装瓶冻干, 即得本品静脉注射冻干剂。使用时用 0.9%生理盐水或 5%葡萄糖注射液稀释后进行静脉注射或静脉点滴。

实施例 21: 急性毒性试验

本实施例选用:

一、动物

ICR 小鼠, 雌雄各半, 体重 18~20g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。合格证号为: SCXK (京) 2002-0003。

二、受试药

3-正丁烯基苯酚, 2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠盐、钾盐、钙盐、N, N'-二苄基乙二胺盐, DL-3-正丁基苯酚, 2-(α -羟基戊基)苯甲酸钾盐、钙盐、N, N'-二苄基乙二胺盐, 由北京天衡药物研究院提供, 用食用色拉油配制成不同浓度。

三、试验方法

取 ICR 小鼠，按体重和性别随机分组，每组 10 只，雌雄各半，根据预试验结果，按组间距 1:0.8 设计各组剂量。经口灌胃，给药容量为 0.2ml/10g 体重，试验前禁食不禁水 12 小时，给药后常规饲养，连续观察 7 天，记录动物毒性反应和死亡情况，死亡组进行尸检，肉眼观察病理变化，用 Bliss 法计算 LD₅₀ 值及 95% 可信限。

四、试验结果

表 2 急性毒性试验结果

化合物名称	LD ₅₀ 值 (g/kg)	95% 可信限 (g/kg)
3-正丁烯基苯酐	2.5692	2.3265~2.8377
2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠盐	2.6515	2.3957~2.9346
2-(α -正戊酮基)苯甲酸钾盐	2.7248	2.4284~3.0573
2-(α -正戊酮基)苯甲酸钙盐	2.6838	2.3716~3.0371
2-(α -正戊酮基)苯甲酸 N,N'-二苄基乙二胺盐	3.0788	2.7701~3.4220
DL-3-正丁基苯酐	2.1861	1.9798~2.4139
2-(α -羟基戊基)苯甲酸钾盐	1.2272	1.1027~1.3659
2-(α -羟基戊基)苯甲酸钙盐	1.5247	1.3405~1.7342
2-(α -羟基戊基)苯甲酸 N,N'-二苄基乙二胺盐	2.8089	2.5381~3.1085

10 从上述结果可以看出，3-正丁烯基苯酐的急性毒性弱于 DL-3-正丁基苯酐，2-(α -正戊酮基)苯甲酸钾盐、钙盐和 N,N'-二苄基乙二胺盐的急性毒性均分别弱于对应的 2-(α -羟基戊基)苯甲酸钾盐、钙盐和 N,N'-二苄基乙二胺盐。

15 实施例 22: 对大脑中动脉血栓模型 (Middle Cerebral Artery Thrombosis, MCAT) 大鼠神经症状及脑梗塞范围的影响

本实施例选用:

一、动物

SD 大鼠, 雌雄兼用, 体重 190~210g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 合格证号: SCXK 11-00-0008。

二、药物与试剂

受试药: 3-正丁烯基苯酚, 2-(α -正戊酮基) 苯甲酸钠盐、钾盐、钙盐、N, N'-二苄基乙二胺盐; DL-3-正丁基苯酚, 2-(α -羟基戊基) 苯甲酸钾盐、钙盐、N, N'-二苄基乙二胺盐, 由北京天衡药物研究院提供, 试验前用食用色拉油混悬, 配制成不同浓度。

试剂: $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (A.R.), 北京化工厂生产, 用 1mol/L 盐酸配制; 红四氮唑 (TTC), 北京化工厂生产。

三、仪器

XTT 实体显微镜: 北京电光科学仪器厂生产; 恒温水浴振荡器 SHZ-22 型: 江苏大仓医疗器械厂生产; 电子分析天平: AEG-220 型, 日本岛津产。

四、试验方法及结果

(一) 对 MCAT 大鼠神经症状的影响

1、分组及给药: 将实验动物随机分成以下各组, 即假手术组, MCAT 模型组, 3-正丁烯基苯酚, 2-(α -正戊酮基) 苯甲酸钠盐、钾盐、钙盐、N, N'-二苄基乙二胺盐, DL-3-正丁基苯酚及 2-(α -羟基戊基) 苯甲酸钾盐、钙盐、N, N'-二苄基乙二胺盐各 50mg/kg、100mg/kg 和 200mg/kg 组。造模前预防给药, 每天灌胃给药 1 次, 连续给药 3 天, 第 4 天造模, 造模后即刻灌胃给予一天剂量。造模后 12 小时再灌胃给予一天剂量, 对照组给予等量溶媒。

2、实施造模手术: 大鼠腹腔注射 12% 水合氯醛溶液 (350mg/kg) 麻醉。参照 Tamura 等的方法 (Tamura A, Graham DI, McCulluoch J et al. Focal Cerebral ischemia in the rat. 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. J Cereb Blood Flow Metab, 1981, 1: 53) 并加以改进, 将大鼠右侧卧位固定, 在眼外眦和外耳道连线中点作一弧形切口, 长约 1.5cm, 夹断颞肌并切去, 暴露颞骨, 用牙科钻在颞骨与颞鳞骨接合处向口侧 1mm 处作一直径 2.5mm 骨窗, 清理残渣, 暴露大脑中动脉 (位于嗅束及大脑下静脉之间)。将吸有 50% 氯化铁溶液 10 μ l 的小片定量滤纸敷在此段大脑中动脉上, 约 30min 待血管颜色

变黑后取下滤纸,用生理盐水冲洗局部组织,逐层缝合,回笼饲养。

- 3、行为检测:参照 Bederson 等的方法 (Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the mode and development of a neurologic examination. Stroke, 1986, 17: 472) 并加以改进,在术后不同时间点 (6h, 24h) 对动物进行行为评分。(1) 提鼠尾离开地面约一尺,观察前肢屈曲情况。如双前肢对称伸向地面,记为 0 分;如手术对侧前肢出现肩屈曲、肘屈曲、肩内旋或既有腕肘的屈曲又有内旋者,记为 1 分。(2) 将动物置于平滑地面上,分别推双肩向对侧移动,检查阻力。如双侧阻力对等且有力记为 0 分;如向手术对侧推动时阻力下降者,记为 1 分。(3) 将动物两前肢置一金属网上,观察两前肢的肌张力。双侧肌张力对等且有力者为 0 分;手术对侧前肢肌张力下降记为 1 分。(4) 提鼠尾离开地面约一尺,动物有不停地向手术对侧旋转者,记为 1 分。根据以上标准评分,满分为 4 分,分数越高,动物的行为障碍越严重。

4、结果分析:对行为检测评分值进行组间比较, t 检验。结果见表 3、4、5。

表 3 各化合物 (50mg/kg) 对 MCAT 大鼠神经症状的影响

组别	剂量 (mg/kg)	例 数	分值		24 小时抑制作 用百分比 (%)
			6h	24h	
模型组	—	11	3.55±0.52	3.64±0.50 ⁻	—
假手术组	—	11	0.00±0.00 ^{***}	0.00±0.00 ^{***}	—
3-正丁烯基苯酚	50	10	3.50±0.53	3.40±0.52	6.59
2-(α-正戊酮基) 苯甲酸钠盐	50	10	3.40±0.70	3.00±0.67 [*]	17.58
2-(α-正戊酮基) 苯甲酸钾盐	50	11	3.27±0.79	2.91±0.70 [*]	20.05
2-(α-正戊酮基) 苯甲酸钙盐	50	11	3.18±0.60	2.73±0.65 ^{***s}	25.00
2-(α-正戊酮基) 苯甲酸 N, N' -二 苄基乙二胺盐	50	11	3.45±0.69	2.91±0.70 [*]	20.05

-20-

DL-3-正丁基苯酐	50	11	3.36 ± 0.81	$3.09 \pm 0.54^*$	15.11
2-(α -羟基戊基) 苯甲酸钾盐	50	10	3.50 ± 0.71	3.30 ± 0.48	9.34
2-(α -羟基戊基) 苯甲酸钙盐	50	11	3.45 ± 0.52	3.36 ± 0.50	7.69
2-(α -羟基戊基) 苯甲酸 N, N' -二 苄基乙二胺盐	50	11	3.45 ± 0.52	$3.09 \pm 0.54^*$	15.11

注：与模型组比较，** $P < 0.01$ ，* $P < 0.05$ 。

2-(α -正戊酮基)苯甲酸钙盐与 2-(α -羟基戊基)苯甲酸钙盐比较，^s $P < 0.05$ 。

5

表 4 各化合物 (100mg/kg) 对 MCAT 大鼠神经症状的影响

组别	剂量 (mg/kg)	例 数	分值		24 小时抑制作 用百分比 (%)
			6h	24h	
模型组	—	11	3.64 ± 0.50	3.73 ± 0.47	—
假手术组	—	11	$0.00 \pm 0.00^{***}$	$0.00 \pm 0.00^{***}$	—
3-正丁烯基苯酐	100	11	3.36 ± 0.81	$2.91 \pm 0.70^{**}$	21.98
2-(α -正戊酮基) 苯甲酸钠盐	100	10	3.10 ± 0.74	$2.80 \pm 0.79^{**}$	24.93
2-(α -正戊酮基) 苯甲酸钾盐	100	11	3.36 ± 0.67	$2.82 \pm 0.75^{**}$	24.40
2-(α -正戊酮基) 苯甲酸钙盐	100	11	3.40 ± 0.52	$2.90 \pm 0.57^{**}$	22.25
2-(α -正戊酮基) 苯甲酸 N, N' -二 苄基乙二胺盐	100	11	3.45 ± 0.52	$2.36 \pm 0.67^{***}$	36.73
DL-3-正丁基苯酐	100	11	3.36 ± 0.50	$3.09 \pm 0.70^*$	17.16

-21-

2-(α -羟基戊基) 苯甲酸钾盐	100	11	3.55 \pm 0.52	3.00 \pm 0.89 [*]	19.57
2-(α -羟基戊基) 苯甲酸钙盐	100	11	3.55 \pm 0.52	3.09 \pm 0.70 [*]	17.16
2-(α -羟基戊基) 苯甲酸 N, N' -二 苄基乙二胺盐	100	11	3.45 \pm 0.52	2.91 \pm 0.70 ^{**}	21.98

注：与模型组比较，*** P<0.001，** P<0.01，* P<0.05。

表5 各化合物 (200mg/kg) 对 MCAT 大鼠神经症状的影响

组别	剂量 (mg/kg)	例 数	分值		24 小时抑制 作用百分比 (%)
			6h	24h	
模型组	—	11	3.55 \pm 0.52	3.73 \pm 0.47	—
假手术组	—	11	0.00 \pm 0.00 ^{***}	0.00 \pm 0.00 ^{***}	—
3-正丁烯基苯酐	200	11	3.36 \pm 0.67	3.00 \pm 0.63 ^{**}	19.57
2-(α -正戊酮基) 苯甲酸钠盐	200	11	3.27 \pm 0.65	2.82 \pm 0.40 ^{***}	24.40
2-(α -正戊酮基) 苯甲酸钾盐	200	10	3.20 \pm 0.63	2.10 \pm 0.32 ^{***s}	43.70
2-(α -正戊酮基) 苯甲酸钙盐	200	11	3.27 \pm 0.79	2.45 \pm 0.82 ^{***}	34.32
2-(α -正戊酮基) 苯甲酸 N, N' - 二苄基乙二胺盐	200	11	3.27 \pm 0.79	2.55 \pm 0.52 ^{***}	31.64
DL-3-正丁基苯 酐	200	11	3.36 \pm 0.67	3.00 \pm 0.89 [*]	19.57
2-(α -羟基戊基)	200	11	3.45 \pm 0.52	2.73 \pm 0.79 ^{**}	26.81

苯甲酸钾盐					
2-(α -羟基戊基) 苯甲酸钙盐	200	11	3.45 ± 0.52	$2.91 \pm 0.54^{**}$	21.98
2-(α -羟基戊基) 苯甲酸 N, N' - 二苄基乙二胺盐	200	11	3.36 ± 0.67	$2.82 \pm 0.87^{**}$	24.40

注：与模型组比较， *** $P < 0.001$ ， ** $P < 0.01$ ， * $P < 0.05$ 。

2-(α -正戊酮基)苯甲酸钾盐与 2-(α -羟基戊基)苯甲酸钾盐比较， s $P < 0.05$ 。

- 5 结果显示，假手术组未见行为异常改变，模型组大鼠在术后 6h、24h 均出现偏瘫样症状，主要表现为手术对侧前肢内收，肩内旋，前肢肌张力降低，肩抗力下降。与模型组相比，各受试化合物在 50~200mg/kg 剂量范围内对大鼠术后 24h 神经症状均有不同程度的改善，其中化合物 2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠盐、钾盐、钙盐、N, N' -二苄基乙二胺盐、DL-3-正丁基苯酞和 2-(α -羟基戊基)苯甲酸 N, N' -二苄基乙二胺盐 50mg/kg 组大鼠术后 24h 神经症状均显著改善 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)；所有受试化合物在 100mg/kg 和 200mg/kg 剂量时大鼠术后 24h 神经症状均有显著改善 ($P < 0.05$ ， $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)；在 50mg/kg 剂量时，2-(α -正戊酮基)苯甲酸钙盐对大鼠术后 24h 神经症状的改善作用显著优于 2-(α -羟基戊基)苯甲酸钙盐 ($P < 0.05$)；在 200mg/kg 剂量时，2-(α -正戊酮基)苯甲酸钾盐对大鼠术后 24h 神经症状的改善作用显著优于 2-(α -羟基戊基)苯甲酸钾盐 ($P < 0.05$)。

- 20 结果提示，2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐系列化合物对缺血性脑损伤引起的肢体张力改变有明显的改善作用，与已公开的 2-(α -羟基戊基)苯甲酸盐相比，本发明的化合物具有更小的显著性疗效剂量，即在较低剂量 (50mg/kg) 下，本发明的化合物即可表现出显著性的效果。此外，从 24 小时抑制作用百分比的数值来看，相同剂量下，2-(α -正戊酮基)苯甲酸钾盐、钙盐及 N, N' -二苄基乙二胺盐对 MCAT 大鼠神经症状的改善作用均分别强于对应的 2-(α -羟基戊基)苯甲酸钾盐、钙盐和 N, N' -二苄基乙二胺盐。

(二) 对 MCAT 大鼠脑梗塞范围的影响

动物经末次行为评分后, 断头取脑。去掉嗅球、小脑和低位脑干, 剩余部份在 4℃ 以下冠状切成 5 片。迅速将脑片置于 TTC 染液中 (每 5ml 染液中含 4% TTC 1.5ml, 1M K_2HPO_4 0.1ml), 37℃ 避光温孵 30 分钟, 再取出, 置于 10% 甲醛液中避光保存。经染色后非缺血区为玫瑰红色, 梗塞区为白色。将白色组织仔细挖下称重, 以梗塞组织重量占总脑重量的百分比作为脑梗塞范围。结果进行组间比较, t 检验, 结果见表 6、7、8。

表 6 各化合物 (50mg/kg) 对 MCAT 大鼠脑梗塞范围的影响

组别	剂量 (g/kg)	例 数	梗塞组织重量占总 脑重量的百分比 (%)	作用抑制 百分比 (%)
模型组	—	11	7.41±2.17	—
假手术组	—	11	0.00±0.00 ^{***}	—
3-正丁烯基苯酚	50	10	5.90±1.50	20.38
2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠盐	50	10	5.26±2.26 [*]	29.01
2-(α -正戊酮基)苯甲酸钾盐	50	11	5.63±1.52 [*]	24.02
2-(α -正戊酮基)苯甲酸钙盐	50	11	5.01±1.79 [*]	32.39
2-(α -正戊酮基)苯甲酸 N, N'- -二苄基乙二胺盐	50	11	5.14±2.17 [*]	30.63
DL-3-正丁基苯酚	50	11	5.66±2.81	23.62
2-(α -羟基戊基)苯甲酸钾盐	50	10	6.16±2.46	16.87
2-(α -羟基戊基)苯甲酸钙盐	50	11	6.39±2.33	13.77
2-(α -羟基戊基)苯甲酸 N, N'- -二苄基乙二胺盐	50	11	5.85±2.32	21.05

10 注: 与模型组比较, ^{**} P<0.01, ^{*} P<0.05。

表 7 各化合物 (100mg/kg) 对 MCAT 大鼠脑梗塞范围的影响

组别	剂量 (g/kg)	例 数	梗塞组织重量占总脑 重量的百分比 (%)	作用抑制百 分比 (%)
----	--------------	--------	-------------------------	-----------------

-24-

模型组	—	11	7.94 ± 2.65	—
假手术组	—	11	$0.00 \pm 0.00^{***}$	—
3-正丁烯基苯酐	100	11	$5.65 \pm 2.10^*$	28.84
2-(α -正戊酮基)苯甲酸 钠盐	100	10	$4.99 \pm 1.83^{**}$	37.16
2-(α -正戊酮基)苯甲酸 钾盐	100	11	$5.09 \pm 2.04^*$	35.89
2-(α -正戊酮基)苯甲酸 钙盐	100	11	$5.23 \pm 2.04^*$	34.13
2-(α -正戊酮基)苯甲酸 N, N' -二苄基乙二胺盐	100	11	$4.68 \pm 1.69^{**}$	41.06
DL-3-正丁基苯酐	100	11	$5.81 \pm 1.49^*$	26.83
2-(α -羟基戊基)苯甲酸 钾盐	100	11	$5.73 \pm 2.20^*$	27.83
2-(α -羟基戊基)苯甲酸 钙盐	100	11	$5.82 \pm 1.90^*$	26.70
2-(α -羟基戊基)苯甲酸 N, N' -二苄基乙二胺盐	100	11	$5.50 \pm 1.82^*$	30.73

注：与模型组比较， $^{**} P < 0.01$ ， $^* P < 0.05$ 。

表 8 各化合物 (200mg/kg) 对 MCAT 大鼠脑梗塞范围的影响

组别	剂量 (g/kg)	例 数	梗塞组织重量占总脑 重量的百分比 (%)	作用抑制 百分比 (%)
模型组	—	11	7.61 ± 2.16	—
假手术组	—	11	$0.00 \pm 0.00^{***}$	—
3-正丁烯基苯酐	200	11	$5.49 \pm 2.14^*$	27.86
2-(α -正戊酮基)苯甲酸 钠盐	200	11	$5.19 \pm 2.40^*$	31.80
2-(α -正戊酮基)苯甲酸	200	10	$4.38 \pm 1.54^{***}$	42.44

-25-

钾盐				
2-(α -正戊酮基)苯甲酸 钙盐	200	11	$4.65 \pm 2.13^{**}$	38.90
2-(α -正戊酮基)苯甲酸 N, N' -二苄基乙二胺盐	200	11	$4.60 \pm 1.26^{**}$	39.55
DL-3-正丁基苯酞	200	11	$5.52 \pm 1.78^*$	27.46
2-(α -羟基戊基)苯甲酸 钾盐	200	11	$5.37 \pm 2.00^*$	29.43
2-(α -羟基戊基)苯甲酸 钙盐	200	11	$5.41 \pm 1.77^*$	28.91
2-(α -羟基戊基)苯甲酸 N, N' -二苄基乙二胺盐	200	11	$5.09 \pm 2.14^*$	33.11

注：与模型组比较，*** $P < 0.001$ ，** $P < 0.01$ ，* $P < 0.05$ 。

结果表明，术后 24h，除假手术组无梗塞灶外，模型组和给药组大鼠均有不同程度的梗塞灶。其中，2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠、钾、钙以及 N, N' -二苄基乙二胺盐 50mg/kg 组大鼠脑梗塞程度明显轻于模型组 ($P < 0.05$)；各化合物 100mg/kg 组大鼠脑梗塞程度均明显轻于模型组，与模型组相比均有显著差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)；各化合物 200mg/kg 组大鼠脑梗塞程度均明显轻于模型组，与模型组相比均有显著差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。

结果提示，2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐系列化合物对缺血性脑损伤引起的脑组织梗塞有明显的改善作用，与已公开的 2-(α -羟基戊基)苯甲酸盐相比，本发明的化合物具有更小的显著性疗效剂量，即在较低剂量 (50mg/kg) 下，本发明的化合物即可表现出显著性的效果。此外，从作用抑制百分比来看，相同剂量下，2-(α -正戊酮基)苯甲酸钾盐、钙盐及 N, N' -二苄基乙二胺盐对 MCAT 大鼠脑组织梗塞的改善作用均分别强于对应的 2-(α -羟基戊基)苯甲酸钾盐、钙盐和 N, N' -二苄基乙二胺盐。

实施例 23: 对大鼠动-静脉旁路血栓形成的影响

本实施例选用:

一、动物

SD 大鼠, 雌雄兼用, 体重 240~280g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 合格证号: SCXK 11-00-0008。

二、药物与试剂

受试药: 3-正丁烯基苯酚, 2-(α -正戊酮基) 苯甲酸钠盐、钾盐、钙盐、N, N'-二苄基乙二胺盐, 由北京天衡药物研究院提供, 试验前用食用色拉油混悬, 配制成不同浓度。

10 天保宁: 浙江康恩贝制药股份有限公司产品, 批号: 020108-4, 受试剂量: 24mg/kg。

三、仪器

AEG-220 型电子分析天平, 日本岛津仪器公司产品; Df-206 型鼓风干燥箱, 北京西城医疗器械厂产品。

15 四、试验方法与结果

试验方法参考陈奇主编,《中药药理研究方法学》, 人民卫生出版社, 1993. 9, 第 1 版, 510

1、分组与给药

20 将大鼠随机分组, 即血栓模型组, 3-正丁烯基苯酚 200mg/kg、100mg/kg、50mg/kg 组, 2-(α -正戊酮基) 苯甲酸钠盐 200mg/kg、100mg/kg、50mg/kg 组, 2-(α -正戊酮基) 苯甲酸钾盐 200mg/kg、100mg/kg、50mg/kg 组, 2-(α -正戊酮基) 苯甲酸钙盐 200mg/kg、100mg/kg、50mg/kg 组, 2-(α -正戊酮基) 苯甲酸 N, N'-二苄基乙二胺盐 200mg/kg、100mg/kg、50mg/kg 组, 天保宁 24mg/kg 组。各给药组均按 0.2ml/100g 体重灌胃给药, 一天 1 次, 连续给药 3 天, 血栓模型组给予等量溶媒。末次给药后即进行手术。

25 2、造模方法

将大鼠腹腔注射 10%水合氯醛 0.35ml/100g 麻醉, 仰卧位固定, 手术, 分离右颈总动脉和左颈外静脉。在 10cm 长的聚乙烯管中段放入一根事先称重的长 8cm 的 0 号手术线, 以生理盐水溶液充满, 两端联结长约 3cm 充满生理盐水溶液的插

管。该管的一端插入左颈外静脉后，另一端插入右颈总动脉。血液从右侧颈总动脉流至聚乙烯管内，再返流入左颈外静脉，构成环路血流。10min后中断血流，迅速取出血栓称重，该重量减去丝线重、纸重即血栓湿重；放入烘箱中 60℃干燥 24h，取出血栓称重，该重量减去丝线重、纸重即血栓干重。各组间采用 t-

5 检验进行比较。按下列公式计算抑制率：

$$\text{抑制率} = \frac{\text{模型组血栓重量} - \text{给药组血栓重量}}{\text{模型组血栓重量}} \times 100\%$$

3、试验结果

结果见表 9、10。

表 9 3-正丁烯基苯酐及 2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠盐对大鼠动-静脉环

10

路血栓的抑制作用 ($\bar{X} \pm SD$)

组别	剂量 (mg/kg)	例 数	血栓湿重 (mg)	抑制 率 (%)	血栓干重 (mg)	抑制 率 (%)
血栓模型组	—	12	211.3 \pm 84.6	—	38.0 \pm 15.2	—
3-正丁烯基苯酐	200	10	141.6 \pm 41.2 [*]	32.99	24.9 \pm 12.3 [*]	34.47
	100	10	137.5 \pm 47.4 [*]	34.93	22.9 \pm 11.9 [*]	39.74
	50	10	169.9 \pm 28.8	19.59	28.6 \pm 9.6	24.74
2-(α -正戊酮基) 苯甲酸钠盐	200	10	131.1 \pm 48.0 [*]	37.96	22.4 \pm 10.1 [*]	41.05
	100	10	115.4 \pm 42.3 ^{**}	45.39	19.7 \pm 7.8 ^{**}	48.16
	50	10	138.8 \pm 41.1 [*]	34.31	26.2 \pm 9.7	31.05
天保宁组	24	11	134.3 \pm 43.6 [*]	36.44	25.4 \pm 10.3 [*]	33.16

注：与血栓模型组相比，** P<0.01，* P<0.05。

表 10 2-(α -正戊酮基)苯甲酸钾、钙及 N, N'-二苄基乙二胺盐对大鼠动-静脉环路血栓的抑制作用 ($\bar{X} \pm SD$)

组别	剂量 (mg/kg)	例 数	血栓湿重 (mg)	抑制 率	血栓干重 (mg)	抑制 率
----	---------------	--------	--------------	---------	--------------	---------

-28-

				(%)		(%)
血栓模型组	—	10	259.2±67.1	—	51.3±12.9	—
2-(α -正戊酮基)苯 甲酸钾盐	200	10	157.0±51.4 ^{**}	39.43	28.3±16.3 ^{**}	44.83
	100	10	192.6±41.2 [*]	25.69	35.6±14.0 [*]	30.60
	50	10	208.8±45.3	19.44	38.3±15.4	25.34
2-(α -正戊酮基)苯 甲酸钙盐	200	11	163.2±64.4 ^{**}	37.04	30.4±13.9 ^{**}	40.74
	100	10	189.8±52.3 [*]	26.77	34.2±13.1 [*]	33.33
	50	10	199.8±30.4 [*]	22.92	40.2±18.0	21.64
2-(α -正戊酮基) 苯甲酸 N, N'-二苄 基乙二胺盐	200	10	191.7±34.8 [*]	26.04	32.3±12.5 ^{**}	37.04
	100	10	157.9±67.9 ^{**}	39.08	29.9±13.6 ^{**}	41.72
	50	10	207.1±45.3	20.10	39.0±10.8 [*]	23.98

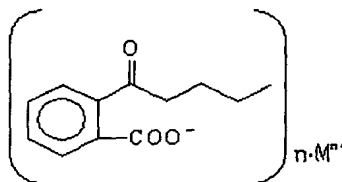
注：与血栓模型组相比，^{**} P<0.01，^{*} P<0.05。

结果显示，各化合物在 50~100mg/kg 剂量范围内均有抑制血栓形成作用，可不同程度的减少动静脉环路血栓的湿重、干重。其中，3-正丁烯基苯酞 100mg/kg 对血栓湿重、干重的最大抑制率分别达到 34.93%和 39.74%；2-(α -正戊酮基)苯甲酸钠盐 100mg/kg 组对血栓湿重、干重的最大抑制率分别达到 45.39%和 48.16%；2-(α -正戊酮基)苯甲酸钾盐 200mg/kg 组对血栓湿重、干重的最大抑制率分别达到 39.43%和 44.83%；2-(α -正戊酮基)苯甲酸钙盐 200mg/kg 组对血栓湿重、干重的最大抑制率分别达到 37.04%和 40.74%；2-(α -正戊酮基)苯甲酸 N, N'-二苄基乙二胺盐 100mg/kg 组对血栓湿重、干重的最大抑制率分别达到 39.08%和 41.72%。

结果提示，3-正丁烯基苯酞及上述 2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐对大脑中动脉血栓模型大鼠神经症状及脑梗塞范围的明显改善作用可能与其对血栓形成的抑制作用有关。

权利要求

1、2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐, 其结构通式如下:



5

其中, $n=1$ 或 2 ; M 为一价金属离子、二价金属离子、或有机碱基。

2、如权利要求 1 所述的 2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐, 其特征是 M 为一价金属离子锂、钠、钾, 或二价金属离子镁、钙、锌, 或有机碱基苄胺、叔丁胺、甲基苄胺、 N, N' -二苄基乙二胺。

10 3、如权利要求 1 所述的 2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐, 其特征是 M 为钠、钾、钙、 N, N' -二苄基乙二胺。

4、权利要求 1 的 2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐的制备方法, 其中 M 为有机碱基, 该方法包括:

15 将 3-正丁烯基苯酐在碱性条件下水解, 再酸化得到 2-(α -正戊酮基)苯甲酸, 溶于低极性溶剂后与有机碱的溶液反应, 成盐析出, 抽滤, 淋洗, 抽干, 干燥即得, 其中所用低极性溶剂包括苯类、乙醚、二氯甲烷、乙酸乙酯。

5、权利要求 1 的 2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐的制备方法, 其中 M 为一价金属离子, 该方法包括:

20 将 3-正丁烯基苯酐在碱性条件下水解, 再酸化得到 2-(α -正戊酮基)苯甲酸, 与溶于强极性溶剂的金属离子的碱反应成盐, 然后搅拌下加入低极性溶剂, 搅拌数小时, 析出, 抽滤, 用溶剂淋洗, 抽干, 干燥即得, 其中所用强极性溶剂包括 C_1-C_4 低级醇类, 低极性溶剂包括苯类、乙醚、二氯甲烷、乙酸乙酯。

6、如权利要求 4 或 5 所述的制备方法, 其特征是低极性溶剂为乙醚, 强极性溶剂为甲醇。

7、权利要求1的2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐的制备方法,其中M为二价金属离子,其特征是,用已制备好的2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐的溶液,与二价金属离子盐的溶液混合,进行盐交换反应,制得二价金属离子的2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐。

5 8、权利要求1中所述的2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐在制备治疗和预防心、脑缺血性疾病及改善心脑血管循环障碍、抗血栓的药物中的应用。

9、一种用于治疗 and 预防心脑血管缺血性疾病及改善心脑血管循环障碍、抗血栓的药物组合物,其特征是含有治疗有效量的权利要求1的2-(α -正戊酮基)苯甲酸盐和药学上可接受的载体。

10 10、如权利要求9所述的药物组合物,其特征是制成片剂、胶囊剂、颗粒剂、静脉注射剂或静脉注射冻干剂。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2004/000602

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC⁷ C07C65/32 C07C51/00 A61K31/19 A61P9/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07C A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, PAJ, CNPAT, CA, STN

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN1382682 A 04.Dec.2002 (2002-12-04) See the whole documents	1-10
A	JP1199958 A 11.Aug.1989(1989-08-11) See the whole documents	1-10
A	JP55098169 A 25.Jul.1980(1980-07-25) See the whole documents	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
19.11.2004

Date of mailing of the international search report

27 · JAN 2004 (27 · 01 · 2004)

Name and mailing address of the ISA/CN
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District,
100088 Beijing, China
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

Luo Ling

Telephone No. 86-10-62085605

International application No.
PCT/CN2004/000602

Patent document cited In search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
CN1382682 A	04.12.2002	NONE	
JP1199958 A	11.08.1989	NONE	
JP55098169 A	25.07.1980	NONE	

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2004/000602

A. 主题的分类

IPC⁷ C07C65/32 C07C51/00 A61K31/19 A61P9/10

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07C A61K A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

WPI, EPODOC, PAJ, CNPAT, CA, STN

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN1382682 A 04.12 月 2002 (2002-12-04) 全文	1-10
A	JP1199958 A 11.08 月 1989(1989-08-11) 全文	1-10
A	JP55098169 A 25.07 月 1980(1980-07-25) 全文	1-10

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☐ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

19.11 月 2004

国际检索报告邮寄日期

27.1月 2005 (27.01.2005)

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088

传真号: (86-10)62019451

受权官员 罗玲

电话号码: (86-10) 62085605

国际检索报告

关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2004/000602

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN1382682 A	04.12.2002	无	
JP1199958 A	11.08.1989	无	
JP55098169 A	25.07.1980	无	